

**Origine et structure des synapses secondaires
entre cellules du parasite *Gelidiocolax deformans*
(Gelidiacées?, Rhodophytes)
et son hôte *Gelidium sesquipedale*
(Gelidiacées, Rhodophytes)**

Juan A. SEOANE-CAMBA

Département de Botanique, Faculté de Pharmacie,
Université de Barcelone, Espagne.

RÉSUMÉ - L'étude au MET des relations intercellulaires entre *Gelidiocolax deformans* Seoane-Camba et *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Thuret montre qu'il s'agit de synapses complexes présentant deux zones différentes, séparées par une ligne médiane caractéristique.

L'analyse comparée de ces synapses avec celles existant normalement entre deux cellules adjacentes du même thalle, tant chez le parasite que chez l'hôte, met en évidence leur double origine: elles résultent en effet de la juxtaposition de deux synapses dont l'une provient de l'hôte et l'autre du parasite. Cette structure complexe paraît s'être différenciée à partir d'une synapse de type normal formée entre une cellule du parasite et une cellule intermédiaire à laquelle elle a donné naissance. Cette synapse, formée entre ces deux cellules, devient complexe lorsque le cytoplasme de la cellule intermédiaire a fusionné avec celui d'une cellule adjacente de l'hôte.

ABSTRACT - Transmission EM study of pit connections between *Gelidiocolax deformans* Seoane-Camba and *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Thuret revealed complex pit plugs with two structurally different zones separated by a characteristic lightly stained layer.

From comparisons of the complex host/parasite pit plugs with normal pit plugs of the parasite and of the host, we conclude that the host/parasite pit plugs are composed of two coupled pit plugs, one belonging to the parasite, the other to the host.

The origin of the complex pit plug begins with the formation by the parasite of a pit plug between the conjuncture cell and its mother cell. This normal pit plug becomes a complex pit plug after the cytoplasm of the conjuncture cell fuses with that of an adjacent host cell.

RESUMEN - El estudio a MET de las conexiones intercelulares entre *Gelidiocolax deformans* Seoane-Camba y *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Thuret muestra que se trata de sinapsis complejas con dos zonas estructuralmente diferentes, separadas por una línea media característica.

El análisis comparado de estas sinapsis con las existentes normalmente entre dos células adyacentes del mismo talo, tanto del parásito como del huésped, pone en evidencia su doble origen; siendo la complejidad de su estructura debida a la yuxtaposición de dos sinapsis, una procedente del huésped y la otra correspondiente al parásito.

Esta estructura compleja parece diferenciarse a partir de una sinapsis formada entre una célula del parásito y otra célula intermediaria producida por la primera. La sinapsis formada entre estas dos células se convierte en sinapsis compleja, cuando el citoplasma de la célula intermediaria se fusiona con el de una célula adyacente del huésped.

MOTS CLÉS : parasitisme, Rhodophycées parasites, cytologie, synapse, *Gelidium*, *Gelidiocolax*.

INTRODUCTION

L'existence d'espèces parasites chez les Rhodophycées a attiré l'attention des phycologistes depuis longtemps. Elles ont alimenté de nombreuses discussions et controverses relatives à leur origine, à leurs affinités systématiques et phylogéniques, ainsi qu'au fonctionnement des connexions cytoplasmiques qui s'établissent entre parasite et hôte (Setchell, 1914, 1918; Sturch, 1926; Feldmann & Feldmann, 1958, 1963; Martin & Pocock, 1953; Pocock, 1956; Baardseth, 1941; Fan, 1961; Evans *et al.*, 1978).

L'existence ou l'absence de synapses secondaires entre cellules du parasite et de son hôte paraissait être un fait relativement significatif permettant de déduire la similarité physiologique du parasite et de son hôte, précisant ainsi la proximité phylogénique des deux organismes (Feldmann & Feldmann, 1958; Fan, 1961).

Récemment, Peyrière (1977), Wetherbee & Quirck (1982a et b), Wetherbee *et al.* (1984), Goff & Coleman (1984, 1985) ont montré que le transfert du noyau cellulaire du parasite dans la cellule affectée de l'hôte est un processus préliminaire à la formation des synapses secondaires parasite-hôte. D'après ces auteurs le noyau, ainsi que d'autres constituants cytoplasmiques du parasite, seraient introduits dans le cytoplasme de la cellule de l'hôte, généralement par l'intermédiaire d'une cellule produite par le parasite et appelée cellule de jonction ou cellule intermédiaire. Les synapses secondaires entre les cellules du parasite et celles de l'hôte sont formées sur la synapse primaire existant entre la cellule du parasite et la cellule intermédiaire qu'elle a produite, lorsque le cytoplasme de cette dernière cellule a fusionné avec celui de la cellule adjacente de l'hôte.

Les synapses entre cellules du parasite et de son hôte ne paraissent généralement pas différentes de celles existant entre les cellules contiguës du thalle du parasite (Kugrens & West, 1973; Goff, 1976; Peyrière, 1977). Cependant ces synapses sont parfois complexes: elles possèdent deux parties différentes, l'une semblable à celle déjà existante entre les cellules du parasite et l'autre similaire à celle de l'hôte (Wetherbee & Quirk, 1982 a et b; Wetherbee *et al.*, 1984).

Dans le complexe *Gelidiocolax deformans* Seoane-Camba / *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Thuret, différents caractères ont été décrits dans des publications antérieures (Seoane-Camba, 1982), et tout particulièrement la présence d'une hyperplasie ayant pour résultat une ramification massive des pinnules de l'espèce parasitée, ainsi que des structures semblables à des "disques" observées

en microscopie photonique dans les zones de contact entre les filaments du parasite et les cellules de l'hôte. Postérieurement, à la lumière d'observations réalisées au MET, nous avons décrit des connexions intercellulaires complexes entre le parasite et l'hôte comme "complex pit valvules" ou "complex synaptic valvules" (Seoane-Camba, 1985).

Dans ce travail nous analysons nos nouveaux résultats dans le but de préciser les structures et l'origine de ces synapses secondaires.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel de *Gelidium sesquipedale* parasité, utilisé dans cette étude, a été récolté en Juillet 1983 à San Vicente de la Barquera (Santander) entre 7-10m de profondeur, ainsi qu'à Bayona (Pontevedra) à basse mer, en avril et août 1986 et 1987.

Le matériel a été fixé, sitôt après la récolte, par la glutaraldéhyde à 3% dans du tampon cacodylate de sodium 0,025 M à 4°C pendant 2 heures et postfixé dans le tétr oxyde d'osmium à 1% pendant 2 heures. Après lavage et déshydratation progressive par l'alcool éthylique, le matériel a été inclus dans l'araldite (Durcupan ACM de Fluka). Les coupes ont été contrastées par l'acétate d'uranyl et le citrate de plomb préparé selon la méthode de Reynolds (1963).

RÉSULTATS

A la suite d'observations au MET les connexions intercellulaires entre *Gelidiocolax deformans* et son hôte *Gelidium sesquipedale* ont pu être mises en évidence comme synapses secondaires. Mais ces synapses, quoique bien centrées, sont différentes des autres synapses car elles présentent un bouchon dissymétrique; celui-ci comporte en effet une face nettement plus convexe du côté du parasite que du côté de l'hôte (Figs. 1C; 3A, B, C; 4A et B).

Cette différence morphologique entre les deux faces s'accompagne d'une différence de structure: il existe en effet une bande dense aux électrons du côté du parasite, alors qu'elle est absente ou réduite à une ligne noire étroite du côté de l'hôte.

La densité et l'homogénéité des granules électrodenses internes du bouchon sont également différentes dans les deux zones: ils sont grossiers et irréguliers du côté du parasite, fins et réguliers du côté de l'hôte.

Par ailleurs, ces deux zones sont séparées par une membrane moins électrodense limitée de chaque côté par deux bandes différentes formées de granules électrodenses.

Les différences de densité et organisation de ces granules électrodenses localisés de part et d'autre de la membrane moyenne claire semblent indiquer que cette dernière correspond véritablement à la surface de contact des deux bouchons synaptiques; il s'agit donc là exactement de l'interface parasite-hôte.

En outre, cette synapse complexe présente normalement un double sillon très net (Fig. 1C; 3C; 4 A et B). Chacun d'entre eux est situé de part et d'autre de la membrane moyenne claire et correspond respectivement ainsi à une des zones du bouchon. Le plasmalemme qui n'est évident que dans certaines régions, tant chez le parasite que chez l'hôte, semble en réalité continu d'une cellule à l'autre. La membrane de séparation du bouchon synaptique et du cytoplasme des deux cellules parasite-hôte ne semblent cependant apparent que du côté de l'hôte.

L'origine de ces synapses complexes est montrée dans la Figure 2. Le phénomène paraît être initié par le parasite, *Gelidiocolax*. Une très petite cellule est formée latéralement par une des cellules du filament interne du parasite. Elle est séparée de la cellule mère par une cloison presque hémisphérique et plus fibrillaire que la paroi normale du parasite. La synapse primaire ainsi formée dans cette cloison présente toujours une membrane de séparation distincte du côté du cytoplasme de la petite cellule, mais apparemment absente du côté du cytoplasme de la cellule-mère. Cette petite cellule fusionne avec la cellule adjacente de l'hôte (Figs. 2B, C et D). Il semblerait ainsi qu'elle puisse être considérée comme cellule de jonction ou cellule intermédiaire (conjunctive cell) décrite par plusieurs auteurs sur différentes espèces d'algues rouges parasites.

Lorsque le cytoplasme d'une cellule intermédiaire fusionne avec celui d'une cellule adjacente de l'hôte, commence alors la formation d'un nouveau type de synapse du côté de la cellule intermédiaire. De cette façon, la synapse primaire de la cellule intermédiaire est transformée en synapse complexe parasite-hôte (Figs. 3A, B et C).

Cette nouvelle synapse est tout à fait comparable à celle commune hôte-hôte existant dans le thalle de *Gelidium* (Fig. 5 A); avec deux membranes (cap membranes) une du côté du cytoplasme et l'autre du côté du bouchon synaptique préexistant. Cette dernière membrane constitue ainsi la membrane moyenne moins électrodense de la synapse complexe.

DISCUSSION

Le genre *Gelidiocolax*, créé par Gardner en 1927, a été inclus dans les Géliadiacées (Feldmann & Feldmann, 1958). Pour Fan & Papenfuss (1959) ce genre est un allopasite qui, d'après la structure du gonimoblaste adulte, doit être rattaché à la famille des Choreocolacées. Cette structure est celle que retrouvent Feldmann & Feldmann (1963) dans le gonimoblaste adulte de *Gelidiocolax christiana*; cependant il ne leur paraît pas démontré que le genre *Gelidiocolax* appartient à la famille des Choreocolacées: si le gonimoblaste est bien différent de celui des Géliadiales, il le paraît être aussi de celui de *Harveyella* et *Choreocolax polysiphoniae*; de plus, le rameau carpogonial est bicellulaire chez *Gelidiocolax* et quadricellulaire chez *Harveyella* et *Choreocolax*. Ces auteurs estiment donc nécessaire "d'attendre que le développement des *Gelidiocolax* soit mieux connu pour se prononcer sur les affinités de ce genre". Toutefois l'étude de *G. christiana* leur permet de confirmer que le genre *Gelidiocolax* est un allopasite et non pas un adelphoparasite.

Gelidiocolax deformans a été décrit en 1982 à la suite de l'étude morphologique comparée avec les autres espèces de *Gelidiocolax*, mais n'ayant pas trouvé

la génération gamétophytique on ne peut décider encore de la famille dans laquelle il convient de placer ce genre.

En se fondant sur les similitudes morphologiques et structurelles qui existent entre *Gelidiocolax deformans* et *G. christiana*, les conclusions de Feldmann & Feldmann (1963) sur les affinités phylogénétiques de *G. christiana* peuvent être appliquées à *G. deformans*: sa place dans les Choreocolacées n'est pas complètement justifiée; il ne s'agit pas d'un vrai adelphoparasite de *Gelidium*. Quoiqu'il en soit les connexions cytoplasmiques du *G. deformans* avec son hôte sont des synapses secondaires mais leur structure est très singulière et complexe.

La comparaison des synapses complexes avec les synapses normales du parasite et de l'hôte, semble montrer que les premières sont constituées par l'accouplement de deux d'entre elles, l'une venant du parasite et l'autre de l'hôte, tout en étant séparées par une membrane moins électrodense, tandis que les synapses normales ne présentent pas cette structure.

Quoique les synapses complexes entre algues parasites et leurs hôtes aient déjà été décrites par d'autres auteurs, nos observations complètent leurs résultats en révélant dans le complexe *Gelidiocolax deformans* / *Gelidium sesquipedale* une structure de transition entre les deux zones de ces synapses beaucoup plus spectaculaire que dans tous les autres cas décrits. La membrane claire entre deux régions plus électrodenses et plus ou moins apparentes de ces synapses complexes est une structure toujours présente, donc normale; elle semble correspondre au fait que les synapses de *Gelidium* possèdent habituellement une membrane très évidente séparant le bouchon synaptique des cytoplasmes des cellules correspondantes (cap membranes) (Fig. 5A). Une de ces membranes est déjà préexistante dans la synapse de la cellule intermédiaire.

Par ailleurs l'existence d'un double sillon évident dans ces synapses complexes montre très clairement que ces dernières correspondent véritablement à un accouplement de deux synapses complètes.

La signification fonctionnelle de l'absence de membrane (cap membrane) du côté du parasite est actuellement inconnue. Wetherbee (1979) et Wetherbee & Quirk (1982b) ont accordé un rôle fonctionnel à ces membranes. Selon ces auteurs leur absence dans les synapses indiquerait qu'il s'agit d'organites intracellulaires qui sont de véritables mécanismes actifs ("transfer connections" in Wetherbee, 1979); en revanche, leur présence indiquerait que les synapses seraient des éléments extracellulaires inactifs.

Cependant utilisant divers arguments, et devant les difficultés rencontrées pour déterminer le nombre et la position des membranes par suite de la fréquente opacité électronique des synapses à ce niveau, Pueschel (1980) est très prudent quant à l'interprétation fonctionnelle de ces structures, bien que la composition soit très particulière à ce niveau (Trick *et al.*, 1988). Goff & Coleman (1984, 1985) suggèrent en outre que dans le complexe *Choreocolax-Polysiphonia*, il y a transfert de l'information génétique contenue dans le noyau de la cellule intermédiaire qui paraît être ainsi un mécanisme de contrôle physiologique exercé par le parasite sur l'hôte.

Dans le cas présent les relations physiologiques entre le parasite et l'hôte semblent exister. L'hyperplasie développée ainsi que l'appauvrissement en grains d'amidons floridiéens des parties parasitées du thalle par rapport aux autres

régions, sont des exemples permettant de suggérer que les matières nutritives passent de l'hôte au parasite, probablement en relation avec quelques stimulations communiquées par le parasite à l'hôte. Bien que ces hypothèses ne soient pas démontrées, ces relations se font, semble-t-il, nécessairement par ces synapses complexes.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie vivement le Service de Microscopie Electronique de l'Université de Barcelone de son importante assistance technique.

RÉFÉRENCES

- BAARDSETH E., 1941 - The marine algae of Tristan da Cunha. *Results of the Norwegian Scient. Exped. to Tristan da Cunha, 1937-1938*, N° 9, 174p.
- EVANS L.V., CALLOW J.A. & CALLOW M.E., 1978 - Parasitic red algae an appraisal. In IRVINE D.E.G. & PRICE J.H. (Eds.), *Modern Approaches to the taxonomy of red and brown algae*. Systematic Association Special Vol. 10, Acad. Press London, pp. 87-109.
- FAN K.C., 1961 - Studies on *Hypneocolax*, with a discussion on the origin of parasitic red algae. *Nova Hedwigia* 3: 119-128.
- FAN K.C. & PAPENFUSS G.F., 1959 - Red algalparasites occurring on members of the Gelidiales. *Madroño* 15: 33-64.
- FELDMANN J. & G., 1958 - Recherches sur quelques Floridiées parasites. *Rev. Gén. Bot.* 65: 49-127.
- FELDMANN J. & G., 1963 - Une nouvelle espèce de Floridiée parasite du genre *Gelidocolax* Gardner. *Rev. Gen. Bot.* 70: 557-571.
- GOFF L.J., 1976 - The biology of *Harveyella mirabilis* (Cryptonemiales, Rhodophyceae). V. Host responses to parasite infection. *J. Phycol.* 12: 313-328.
- GOFF L.J. & COLEMAN A.W., 1984 - Transfer of nuclei from a parasite to its host. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 5420-5424.
- GOFF L.J. & COLEMAN A.W., 1985 - The role of secondary pit connections in red algal parasitism. *J. Phycol.* 21: 483-508.
- KUGRENS P. & WEST J.A., 1973 - The ultrastructure of an alloparasitic red alga *Choreocolax polysiphoniae*. *Phycologia* 12 (3,4): 175-186.
- MARTIN M.T. & POCOCK M.A., 1953 - South African parasitic Florideae and their hosts. 2. Some South African parasitic Florideae. *J. Linn. Soc. London* 55: 48-64.
- POCOCK M.A., 1956 - South African parasitic Florideae and their hosts. Four minute parasitic Florideae. *Proc. Linn. Soc. London* 167: 11-41.
- PEYRIERE M., 1977 - Ultra-structure d' *Harveyella mirabilis* (Cryptonemiales, Rhodophycée) parasite de *Rhodomela confervoides* (Ceramiales, Rhodophycée): origine des synapses secondaires entre cellules de l'hôte et du parasite et entre cellules du parasite. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, 285, D: 965-968.

- PUESCHEL C.M., 1980 - Pit connections and translocation in red algae. *Science* 209: 422-423.
- REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17: 208-212.
- SEOANE-CAMBA, J.A., 1982 - Sobre una Rodoficea parásita de Gelidiaceas. *Collect. Bot. (Barcelona)* 13: 911-918.
- SEOANE-CAMBA J.A., 1985 - An ultrastructural and morphological study on the parasite *Gelidiocolax deformans* Seoane-Camba, as well as the cytological connections with its host *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Thuret. *Second Int. Phycol. Congress. Copenhagen*, 4-10 August (Abstracts).
- SETCHELL W.A., 1914 - Parasitic Florideae. 1. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 6: 1-34.
- SETCHELL W.A., 1918 - Parasitism among the red algae. *Proc. Amer. Philos. Soc.* 57: 155-172.
- STURCH H.H., 1926 - *Choreocolax polysiphoniae* Reinsch. *Ann. Bot. (London)* 40: 585-605.
- TRICK H., DICKENSON A. & PUESCHEL C., 1988 - Cytochemistry of red algal pit plugs. *J. Phycol.* 24 (2 suppl.).
- WETHERBEE R., 1979 - "Transfer connections": specialized pathways for nutrient translocation in a red alga? *Science* 204: 858-859.
- WETHERBEE R. & QUIRK H.M., 1982a - The fine structure and cytology of the association between the parasitic red alga *Holmsella australis* and its red algal host *Gracllaria furcellata*. *Protoplasma* 110: 153-165.
- WETHERBEE R. & QUIRK H.M., 1982b - The fine structure of secondary pit connection formation between the red algal allopasite *Holmsella australis* and its red algal host *Gracllaria furcellata*. *Protoplasma* 110: 166-176.
- WETHERBEE H., QUIRK H.M., MALLET J.E. & RICKER R.W., 1984 - The structure and formation of host-parasite pit connections between the red algal allopasite *Harveyella mirabilis* and its red algal host *Odonthalia floccosa*. *Protoplasma* 119: 62-73.

EXPLICATION DES FIGURES

Abréviations utilisées: cp, cytoplasme du parasite; ch, cytoplasme de l'hôte; ci, cytoplasme de la cellule intermédiaire; ml, membrane moyenne claire; pl, plasmalemme; pw, paroi de la cellule du parasite; hw, paroi de la cellule de l'hôte; fr, paroi fibrillaire de la cellule intermédiaire; pointes de flèche, sillons du bouchon synaptique.

Figure 1

Figs. A et B - Pustules sporifères du parasite *Gelidiocolax deformans* au microscope photonique et au microscope électronique à balayage respectivement. Echelle de A = 30 μm . Echelle de B = 40 μm .

Fig. C - Ultrastructure d'une synapse complexe entre une cellule du parasite et celle de l'hôte. Dans cette figure nous pouvons voir clairement la membrane moyenne moins électrodense (ml), ainsi que les différences de densité et l'organisation des granules électrodenses localisés de part et d'autre de cette membrane; la différence est beaucoup plus frappante dans les zones du bouchon proches des cytoplasmes respectifs; le double sillon synaptique (pointes de flèche) est très net ainsi que la structure fibrillaire typique de la surface de contact entre la paroi du parasite et celle de l'hôte (fr). Echelle = 0,5 μm .

Figure 2

Fig. A - Cellule intermédiaire (ou cellule de jonction). On peut observer déjà ici la membrane claire entre le bouchon et le cytoplasme de la petite cellule (ml), ainsi que la structure fibrillaire de la paroi entre la cellule intermédiaire et sa cellule mère. Echelle = 1 μm .

Fig. B, C et D - Différents types de fusion de la cellule intermédiaire avec la cellule de l'hôte. Echelle de B et C = 1 μm . Echelle de D = 2 μm .

Figure 3

Figs. A, B et C - Ultrastructure des différentes étapes de développement des synapses complexes entre les cellules du parasite et celles de l'hôte. Dans toutes ces figures on peut remarquer, depuis le commencement de la formation de la zone du bouchon situé du côté de l'hôte, que cette zone est toujours plus lamellée à la surface de contact avec le cytoplasme de l'hôte; mais cette structure est toujours absente à la surface de contact avec le cytoplasme du parasite; remarquer aussi la structure fibrillaire entre la paroi du parasite et la paroi de l'hôte au niveau de la primitive cellule intermédiaire. Chaque échelle correspond à 0,5 μm .

Figure 4

Figs. A et B - Ultrastructure de deux types de synapses complexes parasite-hôte bien développées. Chaque échelle correspond à 0,5 μm .

Figure 5

Figs. A et B - Ultrastructure des synapses simples et communes de l'hôte, A, et du parasite, B. On peut observer la différence de structure des deux bouchons, et aussi l'existence, ou non, des membranes entre le bouchon et le cytoplasme (cap membranes) dans la synapse de l'hôte et du parasite respectivement. Chaque échelle correspond à 0,5 μm .









